

RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION HOORN.

Over eiwitveranderingen in vischmeel door de extractie van het vet met trichlooraethyleen.

DOOR

Dr. J. C. DE RUYTER DE WILDT.

(Ingezonden 1 Juni 1929).

In de aan deze voorafgaande verhandeling ¹⁾ werd als conclusie N°. 9 de mogelijkheid geopperd, dat het verschil in mestresultaat verkregen door voeding van vetrijk vischmeel in vergelijking met het daaruit, door middel van ontvetting met trichlooraethyleen, verkregen vetarme product, misschien niet uitsluitend aan het onttrekken van het vet zou zijn toe te schrijven, doch mede beïnvloed zou kunnen zijn door eventueele verandering in de eiwitlichamen van het gevoederde vischmeel als nevenverschijnsel der vet-extractie.

In elk geval leek het interessant eens na te gaan of er werkelijk verschillen ontstaan zijn in de eiwit-(stikstof-)samenstelling der beide vischmeelsoorten. ²⁾

De hier volgende resultaten en beschouwingen gelden alleen het scheikundig onderzoek. Onderzoekingen betreffende de biologische waarde van vischmeel-, diermeeisoorten, enz., zijn in voorbereiding.

Allereerst een woord vooraf over de wijze, waarop de onttrekking van het vet plaats heeft gehad; voor den aard van het vischmeelmateriaal kan naar de voorafgaande verhandeling verwezen worden.

Nadat de visch eerst verwerkt was tot goed droog vischmeel, werd dit in de extractieketel gebracht en na afsluiting „tri” toegelaten en daarna door directe stoomverwarming verhit tot het kookpunt van de „tri” bereikt was (85°—87° C.; D. 1.47). De opstijgende „tri”damp, welke boven in den ketel condenseerde, viel weer op het meel. Dit circulatieproces duurde 3—4 uur, waarna de extractievloeistof afgescheiden en in de tank teruggevoerd werd. Dit aflatproces duurde 1—1½ uur, waardoor de „tri” al vrij volledig was verwijderd. Al deze bewerkingen geschieden bij een druk van 1 atmos-

1) „Over vetarm en vetrijk vischmeel bij het mesten van varkens” door J. C. DE RUYTER DE WILDT.

2) DAVIES onderzocht vijf verschillende soorten vischmeel, speciaal op de samenstelling van de in water oplosbare stikstofverbindingen en vond deze afhankelijk van de ondergane bewerkingen bij de bereiding; zie Journ. Soc. Chem. Indus., 44, (1925), n°. 42, bldz. 487.

feer. Na het lossen van de ketel werd het meel nog bij een temperatuur van 70—80° C. nagedroogd.

Wij geven nu in de eerste plaats de analysecijfers der verschillende partijen, maar thans omgerekend op de watervrije stof, terwijl de gegevens nog uitgebreid zijn met het verteerbare werkelijk eiwit e.a. (Tabel I.)

Ten aanzien dezer cijfers zij medegedeeld dat:

1°. *totaal eiwitachtige stoffen* beteekent N (stikstof) \times 6.25, volgens de methode KJELDAHL bepaald, verminderd met $6.25 \times$ de ammoniakstikstof;

2°. *werkelijk eiwit* bepaald is door stikstofprecipitatie met kaliumaluminiumsulfaat (kalialuin) en koperhydroxyde volgens de methode van het Rijkslandbouwproefstation voor veevoederonderzoek te Wageningen;

3°. *verteerbaar werkelijk eiwit* is verkregen volgens de methode STUTZER-SJOLLEMA met pepsine (Editio IV) en zoutzuur; zie de methodevoorschriften onder 2°. genoemd;

4°. *amideachtige stoffen* is het gehalte onder 1°. aangegeven, verminderd met dat onder 2°.

5°. de *wateroplosbare bestanddeelen* werden bepaald door 10 Gram van het fijne meel met nagenoeg 1 L. water onder herhaald omschudden bij kamertemperatuur gedurende 4 uur weg te zetten, aan te vullen tot 1 L., te filtreeren en in het filtraat in telkens 100 c.c. te bepalen:

- a. *totaal stikstof* volgens KJELDAHL als aangegeven onder 1°;
- b. *ammoniak stikstof* door destillatie met 2 Gram magnesiumoxyde;
- c. *door kalialuin precipiteerbare eiwitstikstof* door toevoeging van 3 tot 5 c.c. eener verzadigde aluïnoplossing in de kookhitte ¹⁾;
- d. *werkelijk eiwit stikstof* door toevoeging van 3 c.c. verzadigde aluïnoplossing als onder c en daarna 10 c.c. eener brij van koperhydroxyde, beantwoordende aan ongeveer 0.4 Gram koperoxyde;
- e. *amideachtige stoffen* is het resultaat van a—d;

6°. het *vet* bepaald is volgens de methode BERNTRUP ²⁾;

7°. het *aschgehalte* door voorzichtige verassing, zonder eenige toevoeging, bij zoo laag mogelijke temperatuur en bepaling van *keukenzout*, *kalk* en *phosphorzuur* en *zand* in deze asch volgens de gebruikelijke methoden. De phosphorzure kalk werd berekend uit het phosphorzuur omdat dit bij vischmeel in het algemeen een veel juister cijfer geeft dan uit de kalk door de veel voorkomende aanwezigheid van koolzure kalk uit schaaldieren, schelpen, enz. ³⁾

Alle cijfers zijn steeds het gemiddelde van minstens twee analyses.

1) Meestal was 3 c.c. voldoende om goede precipitatie te verkrijgen; door koken alleen werd geen neerslag verkregen.

2) Zie de genoemde methodevoorschriften van Wageningen.

3) De graten bevatten iets koolzure kalk, het vleesch een weinig alkalifosphaten.

TABEL I.

Bestanddeel.	Partij A.		Partij B.		Partij C en D.		Partij E.		Gemiddelde der partijen A. B. C. D. E.	
	vetarm	vetrijk	vetarm	vetrijk	vetarm	vetrijk	vetarm	vetrijk	vetarm	vetrijk
	Totaal eiwitachtige stoffen	66.34	63.08	65.10	59.54	65.04	60.24	67.88	65.02	66.09
Werkelijk-eiwit	48.72	50.61	52.12	51.52	48.61	50.27	54.59	54.36	51.01	51.69
Verteerbaar werkelijk-eiwit.	45.05	48.09	49.35	49.18	45.20	44.98	51.91	51.52	47.88	48.44
Amide-achtige stoffen	17.62	12.47	12.98	8.02	16.43	9.97	13.29	10.63	15.08	10.28
In water oplosbaar:										
Totaal eiwitachtige stoffen	23.63	15.87	22.12	11.69	22.88	13.43	23.82	17.07	23.11	14.51
Werkelijk-eiwit	6.75	4.56	9.94	5.86	7.00	4.19	7.19	5.25	7.72	4.97
Door aluin precipiteerbaar eiwit.	2.00	1.00	2.00	1.19	2.13	1.19	2.13	1.44	2.07	1.21
Amide-achtige stoffen	16.88	11.31	12.18	5.83	15.88	9.24	16.63	11.82	15.39	9.55
Ammoniak-stikstof	0.21	0.22	0.22	0.17	0.21	0.18	0.17	0.21	0.20	0.20
Vet.	2.10	6.85	2.05	8.09	1.48	10.45	1.56	7.20	1.80	8.15
Minerale stoffen (asch).	31.57	28.79	32.12	31.40	32.69	26.21	29.78	26.72	31.54	28.28
Zand	4.92	4.11	5.65	2.86	6.06	2.67	3.38	3.54	5.00	3.30
Keukenzout	2.79	2.64	2.71	2.26	2.72	2.31	2.87	2.51	2.77	2.43
Asch — (zand + keukenzout)	23.85	22.04	23.76	26.28	23.91	21.23	23.53	20.67	23.76	22.56
Phosphorzuur (P ₂ O ₅)	8.22	7.84	8.11	8.50	8.11	7.62	7.94	7.21	8.10	7.79
Kalk (CaO)	10.58	10.00	10.65	12.66	11.00	9.30	10.55	9.30	10.70	10.32
Phosphorzure kalk (Ca ₃ [PO ₄] ₂)	17.95	17.12	17.71	18.57	17.71	16.63	17.35	15.75	17.68	17.02

Het gemiddelde vetgehalte van het vetrijke meel was derhalve 8.15 % en dat van het daaruit door extractie bereide vetarme meel 1.80 %.

Van de eiwitachtige stoffen van het vetrijke meel was 80.2 %, 86.5 %, 83.4 % en 83.6 %, gemiddeld **83.4 % werkelijk eiwit** en van dit werkelijk eiwit was 95.0 %, 95.5 %, 89.5 % en 94.8 %, gemiddeld **93.7 %, verteerbaar**; voorts was 19.8 %, 13.5 %, 16.6 % en 16.4 %, gemiddeld **16.6 %**, der eiwitachtige stoffen **amideachtige lichamen**; partij A had het hoogste, partij B het laagste gehalte.

Beschouwen we de oplosbaarheid in water, dan blijkt, dat in het oorspronkelijke vetrijke meel van de **eiwitachtige stoffen in water oplosbaar** was 25.2 %, 19.6 %, 22.3 % en 26.3 %, gemiddeld **23.4 %**. Van het in water oplosbare deel der eiwitachtige stoffen was 28.7 %, 50.1 %, 31.2 % en 30.8 % **werkelijk eiwit** met een gemiddelde van **34.3 %**, d.i. ongeveer $\frac{1}{3}$ deel. Van dit werkelijk eiwit was 21.9 %, 20.3 %, 28.4 % en 27.4 % of gemiddeld **24.4 %** reeds **door aluin precipiteerbaar**. In de waterige oplossing was voorts 71.3 %, 49.9 %, 68.8 % en 69.2 %, gemiddeld **65.7 %**, der eiwitachtige stoffen als **amideachtige lichamen** aanwezig.

De partijen vetrijk vischmeel onderling hebben derhalve maar één wezenlijk verschil en wel, dat partij B bij het laagste gehalte aan totaal eiwitachtige stoffen tevens de kleinste hoeveelheid amideachtige lichamen bevatte, waardoor ook het verschil in de verhoudingscijfers, vooral in de waterige oplossing, verklaard wordt.

Tusschen de ammoniakgehalten was geen verschil en was dit percentage laag.

Om thans een vergelijking te maken met de samenstelling van het uit het vette door extractie met „tri” bereide vetarme meel, gaan we van de veronderstelling uit, dat door de extractie **uitsluitend en alleen vet werd onttrokken**, waardoor het oorspronkelijk vetgehalte in de droge stof van resp. 6.85 %, 8.09 %, 10.45 % en 7.20 % teruggebracht werd tot 2.10 %, 2.05 %, 1.48 % en 1.56 %. Wij moeten dan de overige cijfers van het vetrijke meel der partijen A, B, C—D en E vermenigvuldigen met de respectievelijke factoren:

$$\frac{100-2.10}{100-6.85}, \quad \frac{100-2.05}{100-8.09}, \quad \frac{100-1.48}{100-10.45} \quad \text{en} \quad \frac{100-1.56}{100-7.20}$$

Doen wij dit en brengen we alles weder in een op gelijke wijze samengestelde tabel (Tabel II), dan krijgen wij het volgende overzicht, waarin dus de cijfers in de kolommen „vetrijk” herleid zijn tot meel van hetzelfde vetgehalte als dat van de overeenkomstige „vetarme” partij.

Zie volgende pagina tabel II.

Beschouwen wij thans de cijfers van het geëxtraheerde meel, dan blijkt van het totaal aan eiwitachtige stoffen 73.4 %, 80.1 %, 74.7 % en 80.4 %, gemiddeld **77.2 % werkelijk eiwit** te zijn, waarvan 92.5 %, 94.7 %, 93.0 % en 95.1 %, gemiddeld **93.9 %**, **verteerbaar**.

Van de eiwitachtige stoffen bestond voorts 26.6 %, 19.9 %, 25.3 % en 19.6 %, gemiddeld **22.8 %**, **uit amide-achtige lichamen**.

Gaan wij de cijfers voor de eiwitlichamen in de waterige oplossing na, dan kan het volgende gezegd worden.

TABEL II.

Bestanddeel.	Partij A.		Partij B.		Partij C en D.		Partij E.		Gemiddelde der partijen A, B, C, D en E.	
	vetarm.	vetrijk.	vetarm.	vetrijk.	vetarm.	vetrijk.	vetarm.	vetrijk.	vetarm.	vetrijk.
	Totaal eiwitachtige stoffen	66.34	66.30	65.10	63.45	65.04	66.28	67.88	68.97	66.09
Werkelijk-eiwit	48.72	53.19	52.12	54.90	48.61	55.31	54.59	57.66	51.01	55.27
Verteerbaar werkelijk-eiwit.	45.05	50.54	49.35	52.41	45.20	49.49	51.91	54.65	47.88	51.77
Amide-achtige stoffen	17.62	13.11	12.98	8.55	16.43	10.97	13.29	11.31	15.08	10.98
In water oplosbaar:										
Totaal eiwitachtige stoffen	23.63	16.68	22.12	12.46	22.88	14.78	23.82	18.11	23.11	15.50
Werkelijk-eiwit	6.75	4.79	9.94	6.24	7.00	4.61	7.19	5.57	7.72	5.30
Door aluin precipiteerbaar eiwit.	2.00	1.05	2.00	1.27	2.13	1.31	2.13	1.53	2.07	1.29
Amide-achtige stoffen	16.88	11.89	12.18	6.21	15.88	10.17	16.63	12.54	15.39	10.20
Ammoniak-stukstof	0.21	0.23	0.22	0.18	0.21	0.20	0.17	0.22	0.20	0.21
Vet.	2.10	2.10	2.05	2.05	1.48	1.48	1.56	1.56	1.80	1.80
Minerale stoffen (asch)	31.57	30.26	32.12	33.46	32.69	28.84	29.78	28.34	31.54	30.23
Zand	4.92	4.32	5.65	3.05	6.06	2.94	3.38	3.76	5.00	3.52
Keukenzout	2.79	2.77	2.71	2.41	2.72	2.54	2.87	2.66	2.77	2.60
Asch — (zand + keukenzout)	23.85	23.16	23.76	23.01	23.91	23.36	23.58	21.93	23.76	24.11
Phosphorzuur (P ₂ O ₅)	8.22	8.24	8.11	9.06	8.11	8.38	7.94	7.65	8.10	8.43
Kalk (CaO)	10.58	10.51	10.65	13.49	11.00	10.23	10.55	9.87	10.70	11.02
Phosphorzure kalk (Ca ₃ [PO ₄] ₂)	17.95	17.99	17.71	19.79	17.71	18.30	17.35	16.71	17.68	18.20

Van het **totaal gehalte aan eiwitachtige stoffen** bleek 35.6 %, 34.0 %, 35.2 % en 35.1 % in **water oplosbaar** te zijn of gemiddeld **35.0** %. Van dit in water oplosbaar deel was 28.6 %, 44.9 %, 30.6 % en 30.2 %, gemiddeld **33.4** %, **werkelijk eiwit** en daarvan 29.6 %, 20.1 %, 30.4 % en 29.6 % of gemiddeld **26.9** % reeds door **aluin** alleen precipiteerbaar. Voorts waren als **amide-achtige lichamen** 71.4 %, 55.1 %, 69.4 % en 69.8 %, of gemiddeld **66.6** % van het totaal gehalte aan eiwitachtige stoffen aanwezig.

Uit deze cijfers blijkt, dat er inderdaad veranderingen in de eiwitachtige lichamen hebben plaats gehad. Zeer duidelijk treden de veranderingen, tegen de verdere ongewijzigde samenstelling, in het licht, wanneer we de gemiddelde tabelcijfers als volgt nog omrekenen.

Wanneer wij namelijk de minerale bestanddeelen der afzonderlijke partijen bezien dan blijkt, dat waarschijnlijk bij de tweede bewerking als gevolg der extractie met tri en de daarop gevolgde uitstorting, omscheppen, enz., sommige partijen, n.l. de partijen B en vooral C—D, een weinig verontreinigd zijn. Corrigeeren wij daarom de gemiddelde cijfers van de samenstelling van alle partijen uit tabel II ook nog tot een gelijk zandgehalte van **3.52** %, dan ontstaan de gemiddelde gehalten, welke weergegeven zijn in tabel III.

TABEL III.

Bestanddeel.	Gemiddelde der partijen A, B, C, D en E.	
	vetarm.	vetrijk.
Totaal eiwitachtige stoffen	67.13	66.25
Werkelijk-eiwit	51.82	55.27
Verteerbaar werkelijk-eiwit	48.64	51.77
Amide-achtige stoffen	15.33	10.98
In water oplosbaar:		
Totaal eiwitachtige stoffen	23.48	15.50
Werkelijk-eiwit	7.85	5.30
Door aluin precipiteerbaar eiwit	2.11	1.29
Amide-achtige stoffen	15.64	10.20
Ammoniak-stikstof	0.20	0.21
Vet.	1.80	1.80
Minerale stoffen (asch)	30.48	30.23
Zand	3.52	3.52
Keukenzout	2.82	2.60
Asch — (zand + keukenzout)	24.14	24.11
Phosphorzuur (P ₂ O ₅)	8.24	8.43
Kalk (CaO)	10.88	11.02
Phosphorzure kalk (Ca ₃ (PO ₄) ₂)	17.97	18.20

We zien nu een zeer mooie gelijkheid in cijfers van het geëxtraheerde en niet-geëxtraheerde meel, zoodat het verschil in samenstelling der eiwitachtige lichamen als **eenig verschil** overblijft.

Stellen wij derhalve van deze verschillen ten slotte een overzicht samen, dan kunnen wij als eindresultaat van ons onderzoek en onze berekeningen het volgende tabelletje samenstellen. (Tabel IV.)

TABEL IV.

	Geëxtraheerd.	Niet geëxtraheerd.
Van de totaal aanwezige eiwitachtige lichamen waren aanwezig als:		
a. werkelijk-eiwit	77.2 %	83.4 %
b. amide-achtige stoffen	22.8 %	16.6 %
Van het werkelijk-eiwit was verteerbaar	93.9 %	93.7 %
In water oplosbaar was van de totaal aanwezige eiwitachtige stoffen . . .	35.0 %	23.4 %
daarvan als werkelijk-eiwit	33.4 %	34.3 %
en als amide-achtige lichamen	66.6 %	65.7 %
Van het water oplosbaar werkelijk-eiwit was door aluin precipiteerbaar . . .	26.9 %	24.4 %

Hieruit zijn derhalve de volgende **conclusies** te trekken ten opzichte van de vraag of door de extractie van het vet met trichlooraethyleen de eiwitachtige lichamen van het vischmeel eene wijziging hebben ondergaan.

- 1°. *Er heeft afbraak van eiwitachtige stoffen plaats gehad;*
- 2°. *het gehalte aan werkelijk-eiwit is gedaald;*
- 3°. *dat der amide-achtige lichamen verhoogd;*
- 4°. *de verteerbaarheid van het werkelijk-eiwit heeft daarentegen geen wijziging ondergaan;*
- 5°. *het percentage in water oplosbare eiwitachtige verbindingen is toegenomen;*
- 6°. *het onder 5°. gezegde geldt zoowel het werkelijk-eiwit als de amide-achtige lichamen, waarvan mogelijk de onderlinge verhouding een weinig naar de zijde der laatste is verschoven;*
- 7°. *het percentage van het in water oplosbare werkelijk-eiwit, hetwelk reeds door aluin wordt geprecipiteerd, is verhoogd.*

Ueber Eiweissumsetzungen in Fischmehl bei der Extraktion mit Trichloräthylen.

(Kurze Zusammenfassung obiger Ausführungen).

Zur Gelegenheit einer Untersuchung über die Mastwirkung vom fettarmen und fettreichen Fischmehl bei Schweinen, ¹⁾ wo das fettarme Mehl durch Extraktion mit Trichloräthylen, bei Kochtemperatur dieses Entfettungsmittels, aus dem Fettreichen hergestellt wurde und wo das fettreiche Mehl eine, wenn auch nicht bedeutend, bessere Mastwirkung gezeigt hat, wurde die Möglichkeit geäußert, dass durch die stattgefundenen Extraktion Eiweissumsetzungen oder -Änderungen eingetreten waren, welche sich an der etwas geänderten Mastwirkung beteiligt hatten und diese letztere dadurch nicht allein der Fettentziehung zugeschrieben werden sollte.

Von den 4 für die genannten Versuche gebrauchten Fischmehlen wurde die ganze Zusammensetzung vor und nach der Extraktion bestimmt und die Resultate in Tabelle I niedergelegt. ²⁾ Von den Stickstoffsubstanzen wurden bestimmt:

1. Roheiweiss.
2. Reineiweiss.
3. Verdauliches (Pepsin — HCl) Reineiweiss.
4. Amiden (1—2).
5. Wasserlösliches Roheiweiss.
6. „ Reineiweiss.
7. „ durch Alaun fällbares Eiweiss.
8. Wasserlösliche Amiden (5—6).
9. „ Ammoniakstickstoff.

In der Tabelle II sind die Analysenresultate der fettreichen Mehle umgerechnet auf den Fettgehalt der korrespondierenden extrahierten fettarmen Mehle, in Tabelle III sind die Durchschnittsprozente noch korrigiert auf den gleichen Sandgehalt. ³⁾

Tabelle III zeigt speziell sehr deutlich dass eine schöne Uebereinstimmung in der mineralen Zusammensetzung besteht und dass die Stickstoffzusammensetzung eine notierbare Änderung erlitten hat. Die prozentische Änderung (Abbruch) der Stickstoffsubstanzen ist in der Tabelle IV angegeben, woraus sich ergibt, dass mit der stattgefundenen Fettentziehung mittels Trichloräthylen und der damit zusammengehenden zweifachen Verarbeitung des Materiales, die Eiweisskörper des Fischmehles tatsächlich zum Teile abgebrochen werden, sich Amiden und in Wasser lösliche Eiweissstoffe und Amiden bilden, dagegen die Verdaulichkeit (in Pepsin — HCl) des Reineiweisses nicht in ungünstigem Sinne beeinflusst wurde.

1) Vorhergehende Veröffentlichung in dieser Schrift.

2) Die Daten sind in Prozenten vom Trockensubstanz ausgedrückt.

3) Die Partien B und C—D sind bei der doppelten Verarbeitung wahrscheinlich ein wenig verunreinigt.

Protein changes in fisch meal when fat has been extracted by trichlorethylen.

(A summary of the preceding investigation).

In the former communication ¹⁾ it was shown that when the fat is extracted from fish meal by trichlorethylen the feeding value of the fish meal has been decreased and we have started the idea that not only the diminution of the fat content has caused this decrease but perhaps a protein change too.

In the present paper it has been reported that, reckoned on the same basis of dry matter, fat, and mineral content, the fish meal shows an other composition in protein when extracted by trichlorethylen. The average dates from four lots of fish meal are given in table III. The next table gives the procentual changes in protein composition.

	Extracted.	Non-extracted.
From the crude protein were		
a. pure protein (albuminoids)	77.2 %	88.4 %
b. amido compounds	22.8 %	16.6 %
From the protein were digestible by pepsin and HCl	93.9 %	93.7 %
Water-soluble from the crude proteins were	35.0 %	23.4 %
From these were pure proteins	33.4 %	34.3 %
And amido-compounds	66.6 %	65.7 %
From the water-soluble albuminoids were precipitated by potash alum	26.9 %	24.4 %

This table shows that the albuminoid-content is decreased, the content of amido compounds increased. The water-solubility of both has been increased; there was no great change in the mutual proportion of these water-soluble bodies.

The content of the water-soluble albuminoids precipitated by alum alone ²⁾ has been somewhat increased.

There was no difference in the digestibility of the albuminoids, estimated by mean of pepsin and hydrochloric acid, between the extracted and non-extracted fish meal.

Therefore, extracting the fish meal, some of the protein substances had been broken down but the digestibility of the albuminoids was not changed.

1) Over vetarm en vetrijk vischmeel bij het mesten van varkens (The value of fish-meal rich and poor in fat for swine feeding); see the present paper in this number.

2) The total content of albuminoids has been determined by precipitating with alum and the copper hydroxid glycerol reagent.